

CARACTÉRISATION DE CLUSTERS DE SOUCHES HUMAINES ET ANIMALES DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ET *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTRICES DE β -LACTAMASES À SPECTRE ÉLARGI PAR L'ANTIBIOGRAMME QUANTITATIF

CHARACTERISATION OF CLUSTERS OF HUMAN AND ANIMAL STRAINS OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* AND *ESCHERICHIA COLI* PRODUCING EXTENDED-SPECTRUM β -LACTAMASES USING QUANTITATIVE ANTIBIOGRAMS

BEUDJÉ FÉLICITÉ¹, AFRAN SIDJÈ ARLETTE ^{1,2},
M'BENGUE GBONON VALÉRIE^{1,3}, GUESSENND NATHALIE¹

RÉSUMÉ

L'interdépendance de la santé humaine, la santé animale et l'environnement est un facteur-clé dans la dissémination des bactéries résistantes aux antibiotiques. L'objectif général de ce travail a été de mettre en évidence les clusters des souches de *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* -BLSE d'origines humaine et animale par la technique de l'Antibiogramme Quantitatif (AQ).

Matériel et méthodes : Un total de 114 souches de *Klebsiella pneumoniae* et de *Escherichia coli* productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) d'origine humaine (isolées d'infections urinaires et animale (prélèvements cloacaux chez les poulets et de selles chez des bovins) a fait l'objet d'un antibiogramme quantitatif.

Résultats : Les prévalences des souches BLSE de *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* ont été 48,2 %

dans les urines chez les humains, 34,2 % dans les prélèvements cloacaux chez les poulets et 17,5 % dans les selles chez les bovins. Huit clusters composés à la fois de souches d'origine humaine et animale ont été identifiés par la technique de l'antibiogramme quantitatif.

Conclusion : L'antibiogramme quantitatif s'avère être un potentiel outil de surveillance et une intéressante alternative aux méthodes classiques de typage moléculaire qui sont fastidieuses et onéreuses. Compte tenu des avantages liés à son utilisation, l'antibiogramme quantitatif peut être intégré dans les laboratoires en médecine humaine et vétérinaire ne disposant pas d'équipements adéquats en vue d'une surveillance axée sur le lien épidémiologique des bactéries multi-résistantes pour un meilleur contrôle des infections.

Mots-clés : BLSE- - Antibiogramme quantitatif - *Escherichia coli-Klebsiella pneumoniae-one health*

ABSTRACT

The interdependence of human health, animal health and the environment is a key factor in the dissemination of antibiotic-resistant bacteria. The purpose of this study was to identify clusters of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains of human and animal origin using the Quantitative Antibigram (QA) technique.

Material and methods: A total of 114 ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates of human origin (urinary tract infections) and animal origin (cloacal swabs from chickens and fecal samples from cattle) were subjected to quantitative antibiogram analysis.

Results: The prevalences of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains were

48.2% in human urine samples, 34.2% in cloacal swabs from chickens, and 17.5% in cattle fecal samples. Eight clusters of strains from both humans and animals were identified by quantitative antibiogram. Conclusion: The quantitative antibiogram is a potential surveillance tool and an interesting alternative to conventional molecular typing methods, which are often labor-intensive and costly. Given its advantages, the quantitative antibiogram could be integrated into human and veterinary microbiology laboratories lacking advanced molecular facilities, thereby strengthening surveillance based on the epidemiological links of multidrug-resistant bacteria for improved infection control.

Keywords: ESBL - Quantitative Antibigram - *Escherichia coli-Klebsiella pneumoniae-one health*

- 1- Unité des Antibiotiques, des Substances naturelles, de la Surveillance des Résistances des Microorganismes aux anti-Infectieux, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire
- 2- Laboratoire de Biotechnologie, Agriculture et Valorisation des Espèces, Université Félix Houphouët Boigny, 01 BP V 34 Abidjan 01, Côte d'Ivoire
- 3- Plateforme de Génétique Moléculaire, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

Auteur correspondant : felicite.beudje@gamil.com

INTRODUCTION

La résistance aux antimicrobiens (RAM) est considérée comme une crise sanitaire et mondiale car affectant tous les pays et toutes les couches sociales. Dans le cas de la résistance aux antibiotiques, qui est l'une des composantes les plus importantes de la RAM, les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) notamment *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* sont fréquemment associées aux infections nosocomiales et communautaires (Siriphap *et al.*, 2022 ; Romyasamit *et al.*, 2024). Leur émergence est favorisée par l'utilisation irrationnelle des antibiotiques aussi bien en santé humaine, en santé animale qu'en agriculture. La dissémination des gènes codant pour les BLSE entre les bactéries est exacerbée par le caractère facilement transférable des plasmides qui les portent. Plusieurs études ont effet évoqué le fait que les bactéries résistantes aux antibiotiques peuvent se propager des animaux aux hommes ou de l'environnement aux hommes (Pandey *et al.*, 2023 ; Despotovic *et al.*, 2023 ; Monteiro *et al.*, 2025). Selon la Banque Mondiale, d'ici à 2050, si aucune action concrète

n'est menée, les répercussions de la RAM sur la santé humaine, les moyens de subsistance et la sécurité alimentaire entraîneront d'importantes pertes et ceci particulièrement, dans les pays à faibles revenus (FAO *et al.*, 2021). Dans le cadre de la lutte contre la RAM, l'OMS a élaboré un plan d'action mondial axé sur quatre priorités stratégiques dont la mise en place d'outils de surveillance faciles à utiliser et accessibles à tous les laboratoires. Dans le cadre de cette surveillance, le lien phylogénique des souches est important à établir pour des actions optimales dans la Prévention et de Contrôle des infections. Le pulstypage est la méthode de référence pour distinguer les clusters ; cependant des techniques moins onéreuses et plus accessibles telles que l'antibiogramme quantitatif constituent une alternative pour le suivi épidémiologiques des résistances bactériennes. L'objectif général de ce travail a été de mettre en évidence les clusters des souches de *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* -BLSE d'origines humaine et animale par la technique de l'AQ.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Un total de 114 souches de *Klebsiella pneumoniae* et de *Escherichia coli* productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) a fait l'objet de la présente étude. Ces souches ont été isolées de divers prélèvements effectués chez les humains, les poulets et les bovins au sein de quatre communes (Abobo, Bingerville, Cocody et Yopougon) du district autonome d'Abidjan et à Jacqueville de janvier à juin 2024. L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations de l'EUCAST/CASFM, version 2024.

ANALYSE DE LA SIMILARITÉ ENTRE LES ISOLATS DE LA MÊME ESPÈCE BACTÉRIENNE

L'analyse de la similarité a été réalisée par la méthode de l'antibiogramme quantitatif (AQ) à l'aide du logiciel R. Cette méthode a été faite en deux étapes :

- une analyse des composantes principales (ACP) pour l'élimination des variables manquantes et

- une classification ascendante hiérarchique (CAH) pour le calcul des distances euclidiennes et le regroupement des souches sous forme de dendrogrammes.

Les distances euclidiennes ont été calculées à partir des diamètres d'inhibition d'un nombre restreint de six antibiotiques. Il s'agit de l'amoxicilline/acide clavulanique (20/10 μ g), de l'amikacine (30 μ g), du cefepime (30 μ g), du cefixime (5 μ g), de la gentamycine (10 μ g) et de l'imipénème (10 μ g).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS GÉNÉRÉS PAR L'ANTIBIOGRAMME QUANTITATIF

Une moyenne générale (mg) des diamètres d'inhibition de chaque antibiotique est calculée. Lorsqu'un cluster est significativement associé à un antibiotique, la valeur moyenne (mc) des diamètres d'inhibition pour cet antibiotique dans ce cluster est également déterminée. Ainsi, un cluster est caractérisé par des diamètres d'inhibition élevés pour un antibiotique donné si $mg < mc$ ou par des diamètres d'inhibition faibles si $mg > mc$.

RÉSULTATS

PRÉVALENCE DES SOUCHES BLSE ISOLÉES

Des 114 souches collectées, *Klebsiella pneumoniae* représentait 69,3 % (79/114) des isolats et *Escherichia coli* 30,7 % (35/114). Au niveau humain, les souches cliniques ont été isolées dans des urines (48,2 % ; 60/114) et au niveau animal, les souches de portage ont été isolées de prélèvements cloacaux (34,2 % ; 39/114) chez les poulets et de selles non diarrhéiques (17,5 % ; 20/114) chez les bovins. La répartition des souches selon les types de prélèvements et de l'espèce bactérienne est donnée par les figures 1 et 2.

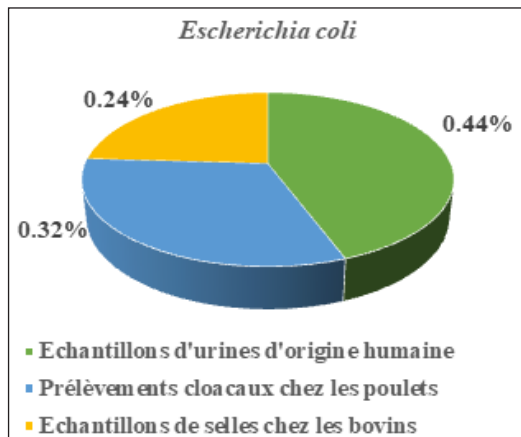


Figure 1 : Répartition des souches d'*Escherichia coli* -BLSE selon les types de prélèvements

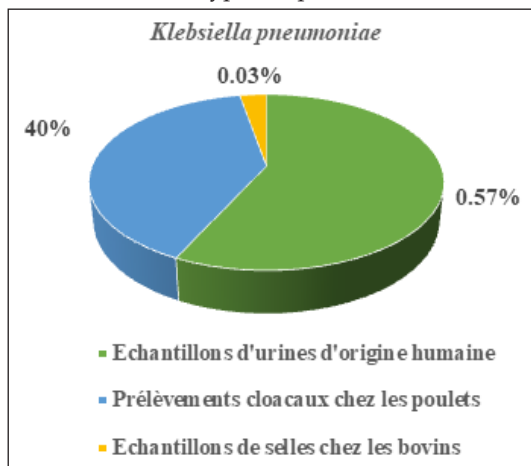


Figure 2 : Répartition des souches de *Klebsiella pneumoniae* -BLSE selon les types de prélèvements

TYPAGE DES SOUCHES PAR LA TECHNIQUE DE L'ANTIBIOGRAMME QUANTITATIF

Analyses épidémiologiques et phénotypiques des clusters de *Escherichia coli*

Les souches de *Escherichia coli* ont été réparties en quatre clusters selon l'AQ :

- Le cluster 1 (C1) est caractérisé par des diamètres d'inhibition élevés pour le mero-pénème et faibles pour l'amoxicilline/acide clavulanique, la céfépime et le céfixime. Ce cluster est constitué de 13 souches d'origine humaine et isolées d'infections urinaires et quatre souches provenant des prélèvements cloacaux chez les poulets et des selles chez les bovins. Ces différentes souches d'origine humaine et animale provenaient pour la plupart de prélèvements réalisés chez des patients et dans les élevages dans la commune de Cocody.
- Le cluster 2 (C2) est quant à lui défini par des souches présentant des diamètres d'inhibition élevés pour les six antibiotiques retenus. En son sein sont groupées neuf souches d'origine animale essentiellement de portage cloacal chez les poulets. Les isolats d'origine humaine au nombre de sept ont été isolées des urines. Une prédominance des souches de la commune de Cocody a été observée aussi bien chez les hommes que chez les animaux.
- Le cluster 3 (C3) est composé de 12 souches dont six d'origine humaine et six d'origine animale. Chez les animaux (les ovins), les bactéries provenaient majoritairement des selles collectées dans la commune d'Abobo. Les souches appartenant au cluster sont caractérisées principalement par des diamètres d'inhibition élevés à la fois pour le mero-pénème et pour l'amikacine.

- Le cluster 4 (C4) est constitué de 34 souches composées de 25 isolats du portage cloacal chez les poulets et des selles chez les bovins collectés pour la plupart dans la commune de Cocody. Le reste des bactéries étant d'origine

humaine et isolé des urines. La plupart des bactéries sont associées à des diamètres d'inhibition élevés pour la gentamycine, l'amikacine et pour le méropénème mais faibles pour l'amoxicilline /acide clavulanique (Figure 3).

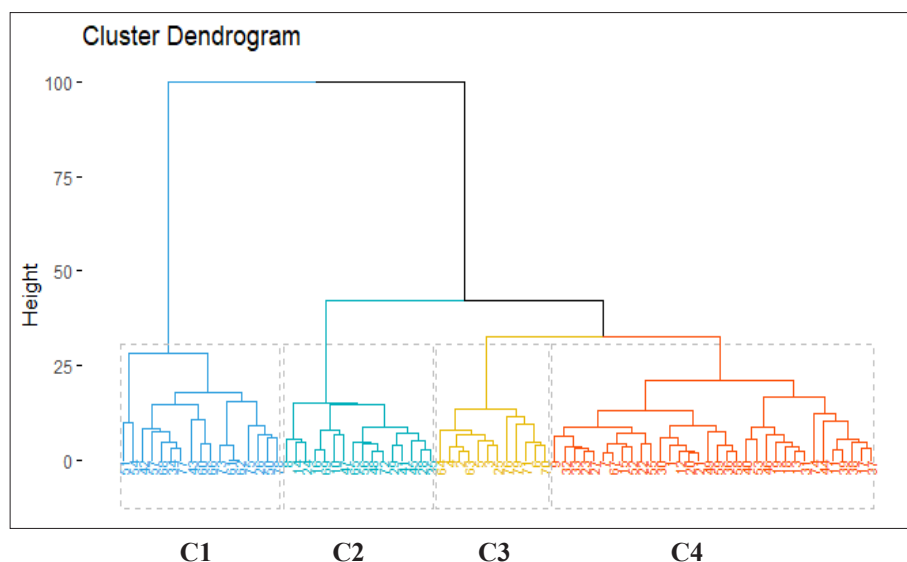


Figure 3 : Dendrogramme AQ représentant les similarités entre les souches de *Escherichia coli*-BLSE d'origines humaine et animale

1, 8, 9, 11 à 29 et 41 à 43 : souches de *Escherichia coli* d'origine animale (poulets), 45 à 79 : souches de *Escherichia coli* d'origine humaine et 2 à 7, 10, 30 à 40 et 44 : souches de *Escherichia coli* d'origine animale (bovins)

C1, C2, C3 et C4 : différents clusters obtenus

ANALYSES ÉPIDÉMIOLOGIQUES ET PHÉNOTYPIQUES DES CLUSTERS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Un total de quatre clusters composés de souches d'origines humaine et animale a été identifié.

- Le cluster 1 (C1) regroupait en son sein 12 souches, toutes collectées dans la commune de Cocody et dont huit isolées des prélèvements cloacaux chez les poulets et quatre d'origine humaine. Ce cluster a été caractérisé essentiellement par des diamètres des zones d'inhibition élevés pour les antibiotiques retenus à l'exception de l'amoxicilline/acide clavulanique et la gentamycine.
- Un total de neuf souches composées de cinq isolées des urines chez les humains

et de quatre de prélèvements cloacaux chez les poulets avec pour site de collecte la commune de Cocody a constitué le cluster 2 (C2). Les caractéristiques de ce cluster ont été la présence de diamètres des zones d'inhibition relativement élevés pour le méropénème, la céfépime et le céfixime mais faibles pour la gentamycine, l'amoxicilline/acide clavulanique et pour l'amikacine.

- Le cluster 3 (C3) comprenait sept souches, toutes d'origine humaine, provenant de Cocody et isolées des urines. Les résultats de l'AQ ont montré que ce cluster était décrit par de faibles diamètres des zones d'inhibition pour l'amikacine, la gentamycine, l'amoxicilline/acide clavulanique et le céfixime mais également par de diamètres élevés pour le méropénème et la céfépime.

- Le cluster 4 (C4) est constitué de sept souches collectées essentiellement dans la commune de Cocody. Ces souches ont été isolées des urines chez les humains et des prélèvements cloacaux et des selles respectivement chez les poulets et les bovins. Le

cluster est défini par des diamètres d'inhibition élevés pour le méropénème et faibles pour la gentamycine, l'amoxicilline/acide clavulanique, l'amikacine, la céfépime et le céfixime (Figure 4).

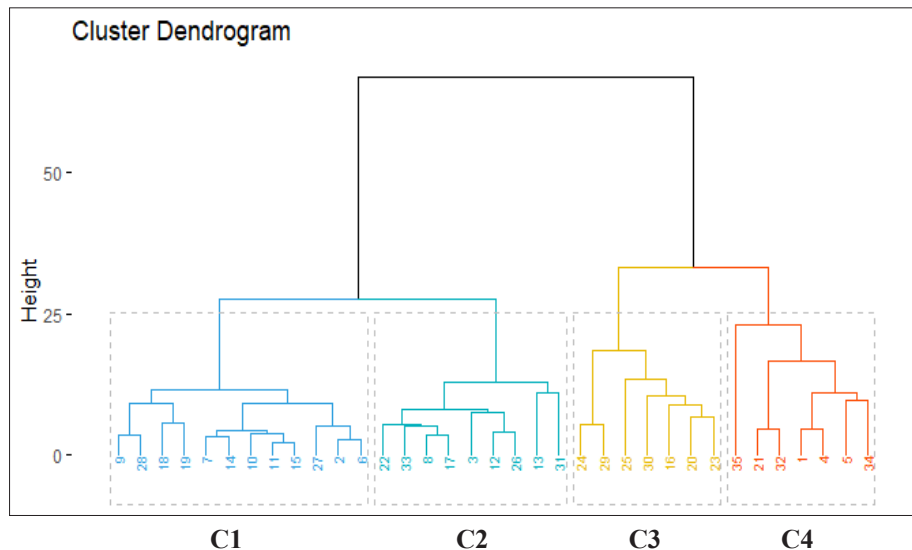


Figure 4 : Dendrogramme AQ représentant les similarités entre les souches de *Klebsiella pneumoniae*-BLSE

1 : souche de *Klebsiella pneumoniae* d'origine animale (bovins), **2 à 15 :** souches de *Klebsiella pneumoniae* d'origine animale (poulets) et **16 à 35 :** souches de *Klebsiella pneumoniae* d'origine humaine

C1, C2, C3 et C4 : différents clusters obtenus

DISCUSSION

Dans ce travail, les prévalences les plus élevées de la production de BLSE ont été observées aussi bien au niveau humain, chez les souches isolées d'infections urinaires qu'au niveau animal chez les souches de prélèvements cloacaux chez les poulets. Jesumirhewe *et al.* (2023) au Nigéria et Kuan *et al.* (2024) en Taïwan ont rapporté des taux de production de BLSE similaires respectivement dans les échantillons humains et chez la volaille notamment des poulets.

L'émergence de la résistance des résistances observées dans les deux secteurs humain et animal résulte du mauvais usage des antibiotiques dans la prise en charge des infections avec notamment leur utilisation comme facteur de croissance dans les élevages particulièrement dans notre contexte (Widodo *et al.*, 2024 ; Hosain *et al.*, 2021).

Un total de huit clusters a été mis en évidence à partir de 114 souches typées par la méthode de l'antibiogramme quantitatif. Considérée comme un potentiel outil susceptible de remplacer les différentes techniques moléculaires classiques, cette méthode a été mise au point aux USA en 1982 par Flournoy (flournoy, 1982). Bien que moins documenté, l'antibiogramme quantitatif a fait ses preuves en permettant de typer avec succès des souches d'*Escherichia coli*-BLSE, *Klebsiella pneumoniae*-BLSE, SARM, *Staphylococcus epidermidis* et en montrant une certaine concordance avec les méthodes moléculaires telles la PFGE, le RAPD et le ribotypage dans diverses études (Sloos *et al.*, 1998 ; Moore et Goldsmith, 2001 ; Bendary *et al.*, 2016 ; Morin-Le Bihan *et al.*, 2023). En Côte d'Ivoire, Gbonon *et al.* (2024) ont également confirmé l'excellente concordance

entre ces deux méthodes (AQ et PFGE) dans une étude de clusters de souches cliniques et de portage d'origine humaine.

Dans la présente étude, la plupart des isolats provenaient de la commune de Cocody. Ce résultat pourrait être dû à l'importante taille des échantillons collectés dans cette commune. Les résultats obtenus ont par ailleurs montré qu'au sein d'un clone, la présence de souches d'origine humaine et celles d'origine animale est observée. Cette observation a mis en évidence une propagation des germes entre les populations et les animaux mais surtout une interdépendance entre ces composantes. Selon l'approche *one health*, il existe des liens étroits entre la santé des personnes, des animaux et des écosystèmes (OMS, 2023). En d'autres termes, la préservation de santé de l'homme passe par celle des animaux et de leurs interactions avec l'environnement. Cette étude met en évidence la circulation clonale de bactéries multirésistantes. Plusieurs raisons pourraient

expliquer l'existence de souches phénotypiquement identiques à la fois chez les humains et les animaux. Cependant dans ce travail, l'explication la plus plausible serait la consommation des produits d'élevage.

En dépit de son utilisation facile et rapide, la réalisation de l'antibiogramme quantitatif nécessite l'obtention de données qualitatives des antibiogrammes, d'un logiciel pour concevoir des dendrogrammes en utilisant ces données et de données épidémiologiques pour l'analyse des clusters produits. Pour certains auteurs, le choix des antibiotiques, la restriction aux souches à contexte épidémiologique bien connu et l'estimation d'un seuil de coupure sont des facteurs déterminants dans l'obtention de meilleurs résultats (Blanc et al., 1994). Ces mêmes auteurs dans une autre étude ont suggéré de sélectionner les antibiotiques selon les critères suivants : (i)- les déterminants de la résistance aux antibiotiques doivent être indépendants (ii)-le nombre d'antibiotiques sélectionnés doit être minimal. (Blanc et al., 1996).

CONCLUSION

Cette étude a mis en évidence l'existence de plusieurs clusters au sein des souches d'*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE. Ces différents clusters sont constitués d'isolats d'origines humaine et animale indiquant une circulation clonale de germe multirésistant entre les secteurs humain et animal dans le district d'Abidjan. La cartographie phylogénique des

bactéries multirésistantes circulantes a été possible grâce à l'antibiogramme quantitatif, potentiel outil de surveillance de la RAM, accessible et peu coûteux. Contrairement aux méthodes classiques de typage moléculaire lourdes et onéreuses, la méthode AQ est donc une intéressante alternative pour les laboratoires de médecine humaine et vétérinaire dans le cadre de la prévention et le contrôle des infections.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Siripap A., Kitti T., Khuekankaew A., Boonlao C., Thephinlap C., Thepmalee C., Suwannasom N. & Khoothiam K. 2022. High prevalence of extended-spectrum betalactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates: A 5-year retrospective study at a Tertiary Hospital in Northern Thailand. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 12:955774: 1-8.
- Romyasamat C., Sornsene P., Kawilu S & Saengsuwan P. 2024. Extended-spectrum beta- lactamase- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: insights from a tertiary hospital in southern Thailand. *Microbiology Spectrum*, 12(7): 1-12.
- Pandey S., Doo H., Keum G.B., Kim E.S., Ryu S., Yejin C., Kang J., Kim S., Lee N. R., Oh K.K., Lee J-H. & Kim H.B. 2023. Antibiotic resistance in livestock, environment, and humans: one health perspectives. *Journal of Animal Science and Technology*, 66 (2): 266-278.
- Despotovic M., de Nies L., Busi S.B. & Wilmes P. 2023. Reservoirs of antimicrobial resistance in the context of one health. *Current Opinion in Microbiology*, 73: 1-7.
- Monteiro H., Silva V., de Sousa T., Calouro R., Saraiva S., Igrejas G & Poeta P. 2025. Antimicrobial Resistance in European Companion Animals Practise : A One Health Approach, *Animals*, 15(12): 1-25.
- Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, Organisation Mondiale de la Santé animale, Organisation Mondiale de la Santé & Programme des Nations Unies pour l'environnement. 2021. Résistance aux antimicrobiens et plan-cadre de coopération des Nations Unies pour le développement durable. 24 p. <https://www.woah.org/app/uploads/2021/10/unsdcf-amr-guidance-web-final-fr.pdf>. Consulté le 23 août 2025.

- Jesumirhewe C., Cabal-Rosel A., Allerberger F., Springer B. & Ruppitsch W. 2023. Genetic characterization of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. from humans and poultry in Nigeria. *Access Microbiol*, 5 (7):1-17.
- Kuan N-L., Chen Y-P., Shien J-H. & Yeh K-S. 2024. Characteristics of the extended spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from diseased livestock and poultry in Taiwan. *Scientific Reports*, 14 (29459): 1-8.
- Widodo A., Khairullah A.R., Effendi M.H., Moses I.B. & Agustin A.L.D. 2024. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* from poultry: A review, *Veterinary World*, 17(9): 2017-2027.
- Hosain M.Z., Kabir S.M.L. & Kamal M.M. 2021. Antimicrobial uses for livestock production in developing countries. *Vet. World*, 14(1): 210-221
- Flournoy D.J. 1982.- Quantitative Antibigram as a potential Tool for Epidemiology Typing. *Infection Control*, 3(5): 384-387.
- Sloos H.J., Horrevorts M.A., Van Boven C.P.A. & Dijkshoorn L. 1998.- Identification of multiresistant *Staphylococcus epidermidis* in neonates of a secondary care Hospital using field gel electrophoresis and quantitative antibiogram typing. *Journal of Clinical Pathologies*, 51: 62-67.
- Moore E.J. & Goldsmith E.C. 2001.- Phenotyping of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by a Quantitative Antibigram [MIC] Typing scheme using Euclidean Distances [QATED]. *BMC Microbiology*, 1 (13) : 1-4.
- Bendary M.M., Solyman M.S., Azab M.M., Mahnoud N.F. & Hanora A.M. 2016.- Genetic diversity of multidrug resistant *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and nonclinical samples in Egypt. *Cellular and Molecular Biology*, 62(10): 55-61.
- Morin-Le Bihan A., Le Neindre K., Dejoies L., Piau C., Donnio P-Y. & Menard G. 2023.- Use of the quantitative antibiogram method for assessing nosocomial transmission of ESBL-producing *Enterobacterales* in a French hospital. *Journal of Hospital Infection*, 135: pp 132-138.
- Gbonon V., Afran S., Egomli S., Gnahoré D., Sylla A., Coulibaly N., Guessennd N., N'Guetta A. & Dosso M. 2024. Prevalence and Study of the Clonality of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Strains in Neonatology at the University Hospitals of Abidjan by the Pulsed Field Gel Electrophoresis and the Quantitative Antibiogram. *Advances in Microbiology*, 14, 416-429.
- Organisation mondiale de la Santé. 2023. One Health. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/one-health>. Consulté le 10 août 2025.
- Blanc S.D., Lugeon C., Wenger A., Siegrist H.H. & Francioli P. 1994.- Quantitative antibiogram Typing Using Inhibition Zone Diameters Compared with Ribotyping for Epidemiological Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 32 (10): 2505-2509.
- Blanc S.D., Pétignat D., Moreillon P., Wenger A., Bile J. & Francioli P. 1996.- Quantitative Antibiogram as a Typing Method for the Prospective Epidemiological Surveillance and Control of MRSA. *Infection with Control and Hospital Epidemiology*, 17 (10): 654-659.